

реперфузии с образованием иммунных комплексов.

### Выводы

1. Клеточные реакции периферической крови в постреанимационном периоде характеризуются системностью: для ранних сроков после оживления характерен нейтрофильный лейкоцитоз, а для поздних стадий - моноцитоз, что свидетельствует о подключении иммунных механизмов.

2. Фагоцитарные реакции клеток белой крови в постреанимационном периоде претерпевают существенные изменения, достоверно повышаясь в ранние сроки (до 3-х суток) с тенденцией к депрессии в дальнейшем.

Изменения фагоцитарной активности крови сопровождаются стойким повышением содержания провоспалительных цитокинов ( $\alpha$ -ФНО) на протяжении всего периода после оживления.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Ананьева С.К. Динамика некоторых иммунологических показателей в постреанимационном периоде: Автореф. дисс. ... канд. мед. наук.-М., 1973.
2. Волков А.В., Мишарина Г.В., Алексеева Г.В., Муравьев О.Б. Эндокринные синдромы при критических состояниях // Вестн. Рос. АМН.- 1997.- № 10.- С. 13-17.
3. Еникеев Д.А., Нургалева Е.А., Идрисова Л.Т., Самигуллина А.Ф., Лаптев О.В. Морфофункциональные изменения в головном мозге и сетчатке глаза в постреанимационном периоде (экспериментальное исследование). // Общая реаниматология.- 2008. -Т. 4. -№1. -С.21-25
4. Зильбер А.П. Медицина критических состояний. - Петрозаводск: Издательство Петрозаводского университета, 1995. -360с.
5. Пермьяков Н.К., Яковлев М.Ю., Галанкин В.Н. Эндотоксин и система полиморфноядерного лейкоцита // Архив патологии. -1989. -№5. -С. 3-11.
6. Редькин Ю.В., Соколова Т.Ф. Динамика показателей периферической крови у больных с тяжелой механической травмой // Лаб. дело.-1985.-№5. -С.285-289.
7. Шишкин В.Л., Сперанский В.В., Загидуллин Ш.З., Филиппов В.В., Ганцева Х.Х. Алехин Е.К. Принципы и методы выявления иммунопатологических состояний при инфекционных аутоиммунных и аллергических заболеваниях: информационно- методическое письмо. -Уфа. 1987. -49с.
8. Berghem L; Lahnborg G; Jarstrand C. Role of phagocyte cells in host defence in relation to trauma--a brief review. Source: Acta Chirurgica Scandinavica. Supplementum [Acta Chir Scand Suppl] 1979; Vol. 489, pp. 231-238.
9. Giovambattista A., Chisari A.N./ Corro L., et al. Metabolic, neuroendocrine and immune functions in basal conditions and during the acute- phase response to endotoxic shock in undernourished rats // Neuroimmunomodulation /. -2000 -Vol.7. -№2. -P. 92-98.
10. Grutkoski PS; Chen Y; Chung CS; Cioffi WG; Ayala A Putative mechanism of hemorrhage-induced leukocyte hyporesponsiveness: induction of suppressor of cytokine signaling-3. // The Journal Of Trauma, -2004. Apr; Vol. 56 (4), pp. 742-7;
11. McCallion K; McAuley DF; Harkin DW; McCarroll CP; Brown GE; Lavery G; Gardiner KR Phagocyte priming as a prognostic indicator in the intensive care unit. // The Journal Of Trauma, -2003 Dec; Vol. 55 (6), pp. 1089-94.
12. Stanford G.G. The stress response to trauma and critical illness. // Crit-Care-Nurs-Clin-North-Am, -1994. v.4. p.693-702

УДК 616.-831-005.4-036.882-08-078]-092.9

© Д.А. Еникеев, Е.А. Нургалева, А.Ф. Самигуллина, Л.В. Нагаева, М.А. Александров, Г.Г. Халитова, 2009

### Д.А. Еникеев, Е.А. Нургалева, А.Ф. Самигуллина, Л.В. Нагаева, М.А. Александров, Г.Г. Халитова ЦИТОКИНЫ И ПОСТИШЕМИЧЕСКИЕ НАРУШЕНИЯ МИКРОЦИРКУЛЯЦИИ МОЗГА КРЫС ПОСЛЕ СМЕРТЕЛЬНОЙ КРОВОПОТЕРИ

*ГОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет Росздрава», г. Уфа*

Целью экспериментального исследования являлось изучение состояния микроциркуляции головного мозга и уровня провоспалительных цитокинов на протяжении 35 суток после смертельной кровопотери. Эксперимент выполнен на 180 неинбредных белых крысах массой 190-220 г под кетаминным наркозом (2 мг/кг). На протяжении всего периода наблюдения выявлялись нарушения в системе микроциркуляции головного мозга крыс, более выраженные в ранние сроки. Наблюдалось значительное повышение уровня TNF- $\alpha$  во все сроки наблюдения, а повышения уровня другого провоспалительного цитокина IL-1 $\beta$  не обнаружено.

**Ключевые слова:** смерть, реанимация, модель заболевания, животные, неврология, мозг, цитокины.

D.A. Enikeyev, E.A. Nurgaleyeva, L.V. Nagayeva, A.F. Samigullina M.A. Aleksandrov., G.G. Khalitova  
**CYTOKINES AND POST-ISCHEMIC MICROCIRCULATION DISORDERS  
 OF THE RAT BRAIN AFTER MORTAL BLOOD LOSS**

The purpose of the experimental investigation was to study the brain microcirculation state and the level of pro-inflammatory cytokines during the 35 day period after mortal blood loss. The experiment was carried out on 180 mongrel white rats by using ketamin anesthesia (2 mg/kg). The microcirculation system disorders in the rat brain were observed within the whole experimental period. They were more marked in the early period. A significant increase in TNF- $\alpha$  level was observed during the whole period. At the same time there was no evidence of IL-1  $\beta$  pro-inflammatory cytokine increase.

**Key words:** death, resuscitation, disease models, animal, neurophysiology, brain, cytokines

Проблема ишемического повреждения мозговой ткани актуальна во всем мире, что объясняется широким распространением, а также высокими показателями временной нетрудоспособности и первичной инвалидизации. Исследования последних лет установили, что наряду с глутамат-кальциевым каскадом и феноменом эксайтотоксичности важнейшую роль играют иммунопатологические механизмы, среди которых наиболее важное значение имеют реакции локального воспаления и аутоиммунной агрессии. Известно, что центральная нервная система находится вне взаимосвязи с иммунной системой, обеспечиваемой гематоэнцефалическим барьером. ЦНС обладает собственными иммунными клетками (клетками микроглии), работа которых направлена на минимальные иммунные повреждения. Их защита от иммунного повреждения важна для сохранности ЦНС, поскольку клетки зрелого мозга терминально дифференцированы и не могут быть компенсированы в результате нейрональных потерь. Установлено, что при экспериментальной ишемии микроглия начинает продуцировать токсичные для ткани мозга цитокины, индуцирующие и поддерживающие воспалительную реакцию [3,4]. В то же время поступление цитокинов в ЦНС возможно и через гематоэнцефалический барьер, целостность которого существенно нарушается при различных экстремальных состояниях [1,2].

Целью настоящей работы явилось изучение содержания цитокинов и состояния микроциркуляции в раннем и позднем постреанимационных периодах.

#### Материалы и методы

Модель клинической смерти, длительно-стью 5 минут, представлена острым одномоментным кровопусканием из сонной артерии у 180 крыс массой 190-220 г под кетаминным наркозом (2 мг/кг). Комплекс реанимационных мероприятий включал внутриартериальное нагнетание забран-

ной крови и искусственную вентиляцию легких. Контролем служила группа наркотизированных крыс (10 животных). Определение цитокинов в сыворотке крови: интерлейкина 1  $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), фактора некроза опухоли -  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) - проводили на 1-е, 3-и, 5-, 7-, 10-, 14-, 21-, 28- и 35-е сутки постреанимационного периода проводили с использованием стандартных диагностических наборов иммуноферментного анализа фирмы «Вектор бест». Цитокины определялись с помощью стандартных диагностических наборов иммуноферментного анализа фирмы «Вектор бест». Для оценки выраженности микроциркуляторных нарушений, проводился забор материала (головной мозг) в те же сроки с последующей фиксацией в 10% нейтральном формалине. Световую микрофотографию срезов коры головного мозга, окрашенных гематоксилином и эозином, проводили с помощью винтового микроскопа «PZO WARSZAWA» при увеличении объектива  $\times 40$ , окуляра  $\times 12$ . Статистическая обработка результатов велась с использованием непараметрических критериев Манна-Уитни для независимых выборок.

#### Результаты и обсуждение

Обнаруженные в ходе эксперимента изменения в системе микроциркуляции коры головного мозга носили фазный характер на протяжении всего восстановительного периода (см. таблицу). В ранние сроки постреанимационного периода в коре головного мозга (первые трое суток) степень нарушения микроциркуляции достигала выраженных значений – до формирования зон частичного и полного отсутствия кровотока с появлением некротических очаговых изменений нейронов, нейрона и выраженным снижением плотности микрососудистой сети. В условиях острой локальной мозговой ишемии снижение плотности сосудистой сети возникает из-за явлений отека мозговой ткани, что приводит к увеличению размера инфарктных зон.

Таблица

Морфометрическая характеристика сосудов микроциркуляторного русла коры головного мозга крыс в разные сроки постреанимационного периода (M $\pm$ m)

| Показатель                                   | Контроль<br>n=5 | Постреанимационный период, сутки |                  |                 |                  |                 |                 |                 |                 |            |
|----------------------------------------------|-----------------|----------------------------------|------------------|-----------------|------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|------------|
|                                              |                 | 1-е, n=5                         | 3-и, n=6         | 5-е, n=5        | 7-е, n=5         | 10-е, n=5       | 14-е, n=6       | 21-е, n=5       | 28-е, n=5       | 35-е, n=5  |
| Плотность сосудистой сети ед/мм <sup>2</sup> | 680,0±46,0      | **<br>462,0±34,0                 | **<br>489,0±28,0 | *<br>520,0±22,0 | *<br>585,0±32,0  | *<br>560,0±27,0 | *<br>537,0±41,0 | *<br>544,0±30,0 | 592,0±40,0      | 598,0±37,0 |
| Диаметр артериол, мкм                        | 30,16±1,84      | **<br>42,55±2,40                 | *<br>39,82±2,11  | *<br>37,41±1,54 | *<br>32,24±2,81  | *<br>30,55±3,37 | *<br>29,44±3,05 | *<br>28,17±2,76 | 29,16±2,91      | 30,71±3,16 |
| Диаметр венул, мкм                           | 37,28±2,21      | *<br>59,36±3,13                  | *<br>54,14±4,96  | *<br>61,22±5,28 | **<br>66,72±4,23 | *<br>56,82±4,36 | *<br>41,29±5,74 | *<br>49,74±2,50 | *<br>46,47±1,93 | 40,05±4,12 |
| Диаметр капилляров (мкм)                     | 5,21±0,38       | *<br>3,58±0,42                   | *<br>4,01±0,13   | *<br>4,88±0,21  | *<br>5,12±0,41   | *<br>3,85±0,32  | *<br>4,32±0,26  | *<br>6,17±0,30  | 5,62±0,45       | 5,48±0,50  |

\* p<0,05,

\*\* p<0,01 – статистически значимые различия по сравнению с контролем (критерий Манна-Уитни).

n – количество животных, обследованных на данный срок наблюдения.

Наблюдались множественные выраженные нарушения проходимости сосудов микроциркуляторного русла. Сосуды на протяжении выглядели деформированными, становились извитыми, появлялись перетяжки по их ходу. В капиллярном звене микроциркуляторного русла выявлялось пространственное сужение просвета сосудов. В приносящем звене выделялись артериолы со значительной их дилатацией, выявлялись множественные расширения, неравномерность просвета (рис.1.). Мониторинг содержания  $\text{TNF-}\alpha$  и  $\text{IL-1}\beta$  в раннем постреанимационном периоде показал разнонаправленные изменения в уровне исследуемых цитокинов (рис. 3). Содержание  $\text{TNF-}\alpha$  в сыворотке крови на первые сутки после оживления превышало контрольные значения в 1,9 раза и подтверждалось статистической достоверностью ( $p=0,005$ ). В условиях острой локальной мозговой ишемии наблюдалось повышение содержания  $\text{TNF-}\alpha$ , что приводит к усилению гемореологических нарушений и формированию микротромбозов, что согласуется с мнением авторов[6]. В то же время содержание  $\text{IL-1}\beta$ , который по данным[6], способствует увеличению отека мозговой ткани, размеру инфарктной зоны, на протяжении всего периода наблюдения был ниже контрольных значений, статистически значимо отличаясь на 3-и, 5-е и 14-е сутки наблюдения. В позднем постреанимационном периоде, к окончанию срока наблюдения (на 28-е и 35-е сутки) уровень  $\text{IL-1}\beta$  по-прежнему оставался ниже значений контрольной группы ( $p=0,02$ ,  $p=0,01$  соответственно). Это связано, возможно с тем, что цитокины это короткоживущие соединения, и их максимальный выброс произошел в ранние сроки наблюдения. А с другой стороны по данным [5] повышение концентрации  $\text{IL-1}\beta$  не всегда фиксируется даже при острых воспалительно- деструктивных процессах, таких как механическая травма. Предполагается, что, помимо высвобождения данного цитокина из макрофагов путем секреции, основное его количество попадает в кровь после гибели этих клеток в условиях тяжелого повреждения тканей.



Рис.1. Кора головного мозга крысы, 1-е сутки постреанимационного периода. Неравномерность контуров артериолы, очаговое расширение просвета. Окраска: гематоксилином и эозином. Увеличение: ок.  $\times 12$ , об.  $\times 40$ .

В более поздние сроки (начиная с 7 суток) в головном мозге отмечалось улучшение проходимости

микрососудов, увеличение среднего диаметра капилляров. Частичное восстановление плотности функционирующей сосудисто-капиллярной сети мозга и ее кровенаполнение развивались, по-видимому, вследствие включения в кровоток ранее окклюзированных капилляров при снижении выраженности отека периваскулярных отростков астроглии. В то же время, несмотря на существенное восстановление плотности микроциркуляторной сети, обнаруживались участки с резко суженным просветом капилляров, уменьшением их калибра, а также встречались мелкие очаги некроза и микрогеморрагий (рис.2).

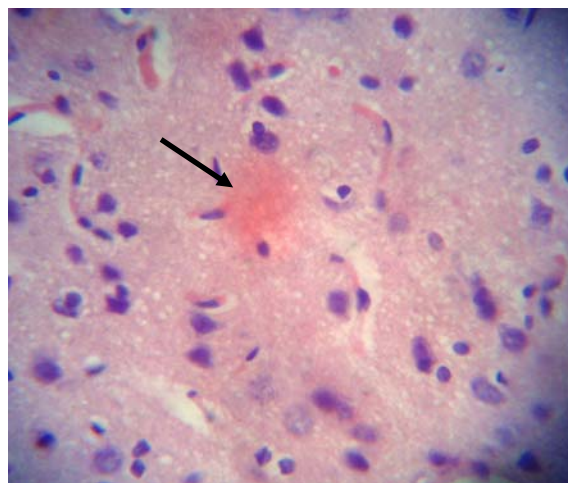


Рис. 2. Кора головного мозга крысы, 14-е сутки постреанимационного периода. Микрогеморрагия (пропитывание ткани мозга эритроцитами) (стрелка). Увеличение : ок.  $\times 12$ , об.  $\times 40$ .

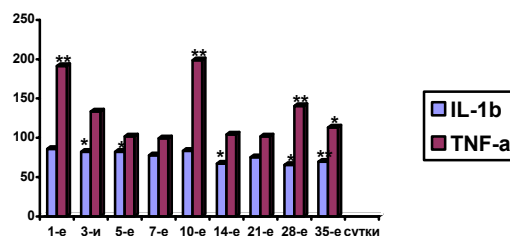


Рис. 3. Динамика содержания  $\text{IL-1}\beta$  и  $\text{TNF-}\alpha$  в сыворотке крови реанимированных крыс (в процентном соотношении).

Со стороны провоспалительных цитокинов наблюдалось постепенное снижение уровня  $\text{TNF-}\alpha$ , статистически значимо не отличающееся от контроля. В то же время на 10-, 28- и 35-е сутки наблюдения происходило повторное повышение уровня  $\text{TNF-}\alpha$ , статистически значимо отличающееся от контрольных значений ( $p=0,02$ ,  $p=0,01$ ,  $p=0,02$ ).

Таким образом, анализ динамики церебральных микроциркуляторных изменений и иммунологических показателей сыворотки крови на протяжении 35 суток после проведенных реанимационных мероприятий позволил выявить значимые звенья патогенеза нейропатологических нарушений в постреанимационном периоде. Выявленные нарушения в системе гемомикроциркуляции сопровождались значительным повышением уровня  $\text{TNF-}\alpha$ , способствующим усилению гемореологических нарушений за счет накопления эритроцитарных агрегатов, плазморагий, измене-

ния поверхности эндотелиальных клеток с адгезией тромбоцитов и лейкоцитов к сосудистой стенке. В поздние сроки наблюдения, несмотря на значительное восстановление параметров микроциркуляторного русла, уровень TNF- $\alpha$  по-прежнему статистически значимо превышал контрольные значения, реализуя иммуновоспалительную реакцию и аутоиммунную агрессию в области ишемии. Очевидно, что снижение уровня IL-1 $\beta$  на протяжении всего периода наблюдения связано с неярко выраженной деструкцией тканей, ведущей к гибели макрофагальных клеток, а также со снижением продукции IL-1 $\beta$  клетками мезенхимального про-

исхождения (эндотелиоцитами) в результате их ишемического повреждения.

#### Выводы

1. На протяжении всего периода наблюдения (35 суток) отмечаются нарушения в системе микроциркуляции головного мозга крыс, более выраженные в ранние сроки (до 7 суток).

2. Нарушения в системе гемомикроциркуляции постреанимационного периода сопровождаются значительным повышением уровня TNF- $\alpha$  во все сроки наблюдения.

3. Повышения уровня провоспалительного цитокина IL-1 $\beta$  с 1-х по 35-е сутки после смертельной кровопотери не обнаружено.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Алексеева Г.В. Клиническая неврология терминальных состояний // Актуальные проблемы и перспективы развития современной реаниматологии: Материалы междунар. симпоз., посвящ. 85-летию акад. РАМН В.А. Неговского. – М., 1994. – С. 8-10.
2. Гусев Е.И., Скворцова В.И. Ишемия головного мозга. – М.: Медицина, 2001. – 328 с.
3. Жданов Г.Н., Герасимова М.М. Оценка роли аутоиммунной воспалительной реакции в патогенезе церебральной ишемии // Неврол. вестн. им. В.М. Бехтерева. – 2003. – Т. 35, Вып. 3-4 – С. 13-17.
4. Жданов Г.Н., Герасимова М.М. Антитела к основному белку миелина в патогенезе острого периода ишемического инсульта // Нейроиммунология. – 2004. – Т. 2, №3-4. – С. 9-12.
5. Симбирцев А.С. Цитокины: классификация и биологические функции // Цитокины и воспаление. – 2004. – Т. 3, №2. – С. 16-22.
6. Elneihoum A.M., Falke P., Axelsson L. et al. Leukocyte activation detected by increased plasma levels of inflammatory mediators in patients with ischemic cerebrovascular diseases // Stroke. – 1996. – Vol. 27, N10. – P. 1734-1738.

УДК 616-099:547.262]-06:616.8-009.831]-08.38.849.19-092.9

© Л.Т. Идрисова, Д.А. Еникеев, Г.А. Байбурина, Л.Г. Шикунова, 2009

#### Л.Т. Идрисова, Д.А. Еникеев, Г.А. Байбурина, Л.Г. Шикунова КОРРЕКЦИЯ АЛКОГОЛЬНЫХ ПОСТКОМАТОЗНЫХ НАРУШЕНИЙ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ МЕТОДОМ КВАНТОВОЙ ГЕМОТЕРАПИИ

*Башкирский государственный медицинский университет,  
кафедра патофизиологии*

Исследовано влияние внутривенной лазерной гемотерапии на течение алкогольной комы у крыс, вызванной внутрижелудочным введением 40% этанола. Применение внутривенного лазерного облучения крови способствовало снижению летальности, уменьшению неврологического дефицита, сокращению сроков клинического выздоровления, оптимизации соотношения между симпатическим и парасимпатическим отделами вегетативной нервной системы. Выявлено позитивное влияние лазерной гемотерапии на сосуды микроциркуляторного русла головного мозга и сетчатки глаза, а также на реологические свойства крови.

**Ключевые слова:** этанол, алкогольная кома, лазерное облучение крови, крысы

#### L.T. Idrisova, D.A. Enikeev, G.A. Baiburina, L.G. Shikunova CORRECTION OF EXPERIMENTAL ALCOHOL POSTCOMATOSE DISORDERS USING QUANTUM HEMOTHERAPY

The effects of intravenous laser hemotherapy on the alcohol coma course in rats induced by 40% ethanol intragastric administration have been studied. The use of intravenous laser radiation of blood contributed to a decline in fatal outcomes rate, reduction in neurological deficiency, decrease in resuscitation course, improvement of correlation between sympathetic and parasympathetic areas of the vegetative nervous system. Positive effects of laser hemotherapy on the cerebral microcirculatory bed and eye retina as well as blood reologic properties have been detected.

**Key words:** ethanol, alcohol, blood laser radiation, rats.

Алкоголь является одним из наиболее распространенных токсикантов, способных не только вызывать патологические сдвиги в центральной нервной системе, но и создавать неблагоприятный преморбидный фон и существенно ухудшать течение

целого ряда патологических процессов. Токсическое влияние алкоголя связано с развивающейся гипоксией, ишемией и цитотоксическим эффектом [8, 10]. Наиболее частой причиной развития нарушений в головном мозге и сетчатке гла-